Aus der Universitäts-Kinderklinik in Hamburg
Direktor: Prof. Dr. Degkwitz

Die Speicherungsweise von kolloiddispersem Cholesteryltrijodstearat im Tierkörper bei intravenöser Injektion

Dissertation

zur Erlangung der Medizinischen Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Hansischen Universität

vorgelegt von

Benjamin Lorenz Lukov
aus Philadelphia, Pennsylvania, U.S.A.

Hamburg 1938

Berichterstatter: Prof. Dr. *Degkwitz*

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Hansischen Universität, Hamburg

Niemann & Moschinski, Hamburg 23, Kantstr. 18

Meiner Frau und unseren Eltern
mit Liebe und Verehrung gewidmet

Gang der Arbeit:

1. Darstellung der Substanz
2. Kaninchen-Injektionen
3. Röntgenaufnahmen
4. Fettentnahmen
5. Urine und Kotmessungen

Ergebnisse in Tabellenform

Besprechung der Ergebnisse

Zusammenfassung

Durch intravenöse Injektion organischer Jodverbindungen in Form hochkonzentrierter Sole konnte *R. Degkwitz* Leber und Milz der Röntgendiagnostik zugänglich machen. Unter den organischen Jodverbindungen, die auf Grund ihrer allgemeinen physikalischen und chemischen Eigenschaften für die Darstellung von Kontrastsolen in Frage kommen, mußte durch die Erprobung der Sole im Tierversuch eine Auswahl getroffen werden.

Die Eigenschaften, denen bei einer Prüfung dieser Art besondere Beachtung zuteil werden muß, sind folgende:

1. Die Verträglichkeit der Sole. 2. Der Ort der Speicherung der Solteilchen im Körper des Versuchstieres. Hierbei ist eine lokale Ablagerung in bestimmten Organen oder eine allgemeine, auf Grund der lipoiden Natur der Substanzen im Fettgewebe erfolgende Ablagerung in Betracht zu ziehen. 3. Art und zeitlicher Verlauf der Jodausscheidung. 4. Etwaige Einflüsse auf den Stoffwechsel.

Die vorliegende Arbeit hat eine Prüfung von Solen des Cholesterinesters der Trijodstearinsäure nach den oben dargelegten Gesichtspunkten zum Gegenstand.

Die Darstellung der Substanz. Durch schwaches Erwärmen eines Gemisches von Trijodstearinsäure (aus Linolensäure durch Anlagerung von Jodwasserstoffsäure hergestellt) mit Thionylchlorid wurde das Chlorid der Trijodstearinsäure erhalten. Das Trijodstearinsäurechlorid wurde mit der berechneten Menge Cholesterin gemeinsam in Chloroform gelöst. Bei mäßigem Erwärmen entstand unter Entwicklung von Chlorwasserstoff der Cholesterylester der Trijodstearinsäure. Das Reaktionsgemisch wurde, um freies Jod zu entfernen, mit schwefliger Säure gewaschen und dann zum Zweck der Entfernung freier Säuren mit sehr verdünnten Kaliumkarbonatlösungen ausgeschüttelt. Nach Abtrennung der wässerigen Phase wurde die Lösung des Reaktionsproduktes in Chloroform mit entwässertem Natriumsulfat getrocknet, filtriert und im Vakuum eingedampft. Die zurückbleibende Substanz war leicht bräunlich gefärbt, von dicklicher Beschaffenheit, gut löslich in Äther, in Alkohol kaum löslich und enthielt 34,9 % Jod (theoret. jodmenge 36,8 %).

Nach einer besonderen, im Laboratorium der Universitäts-Kinderklinik Hamburg entwickelten Arbeitsweise wurde die Substanz zu einem feindispersen Sol mit einem Jodgehalt von 12 %, entsprechend einem Gehalt an Substanz von ca. 35 %, verarbeitet. Zur Stabilisierung des Sols wurde Lecithin in geringer Menge verwendet.

Als Versuchstiere wurden drei Kaninchen im Gewicht von je rund 2,5 kg gewählt. Die Tiere wurden in Stoffwechselkäfigen gehalten. Als Futter erhielten sie Kohlblätter, die so reichlich gegeben wurden, daß stets ein Teil davon übrig blieb. Die verzehrte Menge wurde durch Wägung ermittelt. Ebenso wurden die Ausscheidungen mengenmäßig erfaßt.

Das Sol wurde den Tieren am achten Versuchstage in eine Ohrvene injiziert. Das Befinden der Tiere nach der Injektion war gut. Von zwei Kaninchen, Nr. 43 und 45, wurden am Tage der Injektion und am folgenden Tage Röntgenaufnahmen gemacht. Die Aufnahmen (Abb. 3—8) zeigen bei einem Vergleich mit den vor der Injektion gemachten Leeraufnahmen (Abb. 1 und 2) mäßige bis gute Leber- und Milzkontraste. Dem Kaninchen 43 wurden am Injektionstage, drei Stunden nach der Injektion, 4 Gramm Fett aus der Bauchgegend durch einen chirurgischen Eingriff entnommen. Am folgenden Tage wurde in gleicher Weise dem Kaninchen 45 die gleiche Fettmenge entnommen. Das Fett wurde durch längeres Kochen mit alkoholischer Kalilauge am Rückflußkühler unter Abspaltung des gebundenen Jodes verseift. Durch Zugabe von Salzsäure wurden die entstandenen Seifen unter Abscheidung der freien Fettsäuren zersetzt. Der wässerig-alkoholische Rückstand wurde filtriert und zwecks Vertreibung des Alkohols eingedampft und mit Wasser auf ein Volumen von 20 ccm gebracht. Dann wurde durch Ansäuern mit verd. Schwefelsäure und Zugabe von einigen Tropfen zehnprozentiger Natriumnitritlösung das vorhandene Jod frei gemacht und durch Ausschütteln in 10 ccm Chloroform aufgenommen. Jod färbt hierbei — je nach der vorhandenen Menge — das Chloroform zart rosa bis rotviolett, so daß eine Ermittelung der vorhandenen Jodmenge durch kolorimetrischen Vergleich der zu untersuchenden Jodlösung mit einer Lösung von bekanntem Jodgehalt möglich ist. Der in dieser Weise bestimmte Jodgehalt der Fettproben (je 4 g) erwies sich als sehr gering. Er lag zwischen 0,3 und 0,2 mg. In 100 g Fett waren demnach 5 bis 8 mg Jod in gebundener Form enthalten.

Vom Tage der Injektion an wurde auch die täglich ausgeschiedene Menge Jod im Urin und Kot bei jedem Tier einzeln bestimmt. Gemessene Mengen Kot und Urin wurden in einer Nickelschale mit wenig festem Kaliumhydrocyd bis zur Verkohlung erhitzt. Der Rückstand wurde mit einem Gemisch von Kalium- und Natriumnitrat verascht, in Wasser aufgenommen und filtriert. Die weitere Verarbeitung und die Bestimmungsweise des Jodes war die gleiche wie bei der Untersuchung des Fettes auf Jod. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 1, 2 und 3 wiedergegeben.

Besprechung der Ergebnisse. Das Cholesteryltrijodstearat war zum Zweck der Injektion gewählt worden, weil diese Substanz besonders körpereigen erscheint. Als Ester hat das Cholesteryltrijodstearat eine gewisse Ähnlichkeit mit den Fetten; zudem sind Ester des Cholesterins, wenn auch in geringer Menge, ein regelmäßiger Bestandteil des Tierkörpers. Dem entspricht auch eine be-

sonders gute Verträglichkeit der Substanz. Die Tiere vertrugen die Injektion des Sols ohne jede Reaktion und zeigten auch späterhin keine Verschlechterung des Befindens, die auf das Sol zurückzuführen gewesen wäre. Am 7. und 8. Versuchstage war der Futterverzehr bei den Kaninchen 43 und 45 geringer, weil diese zeitweise nüchtern gesetzt werden mußten, um die Röntgenaufnahmen nicht durch starke Magen- und Darmfüllung zu beeinträchtigen. Kaninchen 44, das weder geröntgt, noch operiert wurde, bekam auch am 7. und 8. Versuchstage reichlich Futter und verzehrte die normale Futtermenge.

Über die Verteilung der Substanz im Körper geben die Röntgenaufnahmen und die Bestimmung des Jodgehaltes des Fettes Aufschluß. Würde die Substanz nicht von einzelnen Organen gespeichert, so wäre zu erwarten, daß sie auf Grund ihrer Fettähnlichkeit vorzugsweise in den Fettdepots zur Ablagerung käme. Da die Aufnahmen deutliche Leber- und Milzkontraste zeigen und das Fett nur einen sehr geringen Jodgehalt aufweist, kann mit Sicherheit gesagt werden, daß die Substanz fast ausschließlich in Leber und Milz gespeichert wird, bis ihr Abbau und ihre Ausscheidung erfolgt ist.

Die Ausscheidung des Jodes erfolgt vorzugsweise mit dem Urin. Jedoch sind auch im Kot Jodmengen enthalten, die immerhin zu groß erscheinen, um ihre Anwesenheit im Kot mit gewissen technischen Mängeln von Stoffwechselversuchen erklären zu können. Die Jodausscheidung erfolgt zunächst sehr rasch: in den ersten drei Tagen nach der Injektion werden nahezu zwei Drittel des injizierten Jodes in den Ausscheidungen gefunden. Dann sinkt die Jodausscheidung rasch ab, ist aber vier Wochen nach der Injektion im Urin an der Rosafärbung des Chloroforms beim qualitativen Jodnachweis noch eindeutig erkennbar.

Ein Einfluß auf den Stoffwechsel in bezug auf Freßlust der Tiere und Menge der Ausscheidungen machte sich nicht geltend. Kaninchen 44, bei dem kein chirurgischer Eingriff zwecks Fettentnahme gemacht wurde und keine Hungertage für Röntgenaufnahmen eingelegt wurden, zeigt eine kleine Gewichtszunahme, während die Kaninchen 43 und 45 unbedeutend an Gewicht verloren haben.

Das Cholesteryltrijodstearat kann somit als eine bei intravenöser Injektion in Solform gut verträgliche Substanz bezeichnet werden, die Leber und Milz sichtbar macht und deren Jod rasch zur Ausscheidung gelangt. Ein Nachteil der Verbindung ist der verhältnismäßig geringe Iodgehalt (37 %), da hierdurch die Substanzmengen und Solvolumina, die zur Erzielung guter Kontraste erforderlich sind, unbequem groß werden.

Die gute Verträglichkeit der Substanz steht im Einklang mit ihrer Ähnlichkeit mit körpereigenen Bestandteilen, den Fetten und Cholesterinestern, ist aber letzten Endes wohl als ein Ausdruck ihrer ungewöhnlich geringen Löslichkeit in den Körperflüssigkeiten anzusehen. Der Betrag dieser Löslichkeit entzieht sich bei einer so aus-

gesprochen lipoiden Substanz zwar der unmittelbaren Messung; es können aber Rückschlüsse auf die Wasserlöslichkeit fettartiger Substanzen aus ihrer Alkohollöslichkeit gezogen werden. Diese ist bei esterartigen Verbindungen mit großem Molekül sehr gering und jedenfalls geringer als z. B. die von Fettsäuren und Fettalkoholen mit entsprechend großem Molekül.

Zusammenfassung:

1. Der Cholesterinester des Trijodstearinsäure wird bei intravenöser Injektion in Solform im Tierversuch gut vertragen.

2. Die Solteilchen werden in Leber und Milz der Versuchstiere gespeichert und machen diese Organe in der Röntgenaufnahme sichtbar. Eine Speicherung des organischen Jodverbindung im Fettgewebe findet nicht statt.

3. Die Ausscheidung des Jodes erfolgt mit dem Urin und ist nach drei bis vier Tagen praktisch beendet.

4. Der Stoffwechsel der Versuchstiere ist nicht merklich beeinflußt.

Tabelle 1

Kaninchen 43

Gewicht am 1. Versuchstag . . . . . 2600 g
Gewicht am 14. (letzten) Versuchstag . . 2550 g

Tag	Futter	Urin	Kot	Jod im Urin	Jod im Kot	Bemerkungen
	g	ccm	g	mg	mg	
1	480	260	60			
2	510	270	85			
3	500	300	75			
4	430	220	60			
5	470	250	65			
6	520	320	75			
7	110	120	50	180	15	Injektion von 7,4 ccm
8	90	80	35	150	25	Sol. Am 7., 8. und 9.
9	420	230	50	180	20	Versuchstag wurde das
10	540	380	70	130	15	Tier zeitweise nüchtern
11	490	250	75	50	5	gesetzt.
12	620	300	80	20	2	
13	530	230	65	10	Spur	
14	550	280	70	4	Spur	

In den Ausscheidungen wurden rund 800 mg Jod gefunden. Die injizierte Jodmenge betrug rund 890 mg.

Tabelle 2

Kaninchen 44

Gewicht am 1. Versuchstag . . . . . 2450 g
Gewicht am 14. (letzten) Versuchstag . . 2650 g

Tag	Futter	Urin	Kot	Jod im Urin	Jod im Kot	Bemerkungen
	g	ccm	g	mg	mg	
1	240	170	35			
2	410	230	50			
3	490	250	60			
4	480	260	55			
5	510	210	70			
6	500	300	70			
7	530	290	60	310	30	Injektion
8	610	350	85	190	14	von 7,4 ccm Sol.
9	550	330	55	95	8	
10	460	240	50	50	5	
11	460	210	60	33	2	
12	530	290	40	15	Spur	
13	490	300	45	6	Spur	
14	480	280	55	2	Spur	

In den Ausscheidungen wurden rund 760 mg Jod gefunden. Die injizierte Jodmenge betrug 890 mg.

Tabelle 3

Kaninchen 45

Gewicht am 1. Versuchstag . . . . . 2480 g
Gewicht am 14. (letzten) Versuchstag . . 2420 g

Tag	Futter	Urin	Kot	Jod im Urin	Jod im Kot	Bemerkungen
	g	ccm	g	mg	mg	
1	390	220	60			
2	460	280	75			
3	450	250	70			
4	490	270	65			
5	470	240	40			
6	500	290	85			
7	110	90	30	190	20	Injektion von 7,3 ccm
8	70	80	30	150	20	Sol. Am 7., 8. und 9.
9	560	320	65	160	12	Versuchstag wurde das
10	460	240	50	90	6	Tier zeitweise nüchtern
11	470	250	25	40	5	gesetzt.
12	530	290	70	24	3	
13	490	330	75	8	Spur	
14	450	240	40	5	Spur	

In den Ausscheidungen wurden 730 mg Jod gefunden. Die injizierte Jodmenge betrug 880 mg.

Lebenslauf.

Ich wurde am 1. Mai 1909 als Sohn des Herrn Meyer Lukov und seiner Frau Minnie Lukov in Philadelphia, Pennsylvania, geboren.

Von meinem 6. bis 13. Lebensjahre besuchte ich die Volksschule in Philadelphia, Pennsylvania. Nach einem vierjährigen Lehrgange in der öffentlichen Sekundärschule dortselbst immatrikulierte ich mich im Februar 1928 an der Temple University of Philadelphia. Nach Beendigung eines Jahres an dieser Universität hatte ich die folgenden drei Jahre in der University of Pennsylvania beendet und damit den Baccalaureus-Grad für die Naturwissenschaften erworben.

Im Oktober 1932 kam ich nach Europa, um Medizin zu studieren. Nach drei Semestern in Königsberg hatte ich den ersten Teil des Physikums und nach zwei folgenden Semestern hatte ich auch den zweiten Teil des Physikums mit Erfolg bestanden. Von meinen klinischen Semestern belegte ich eins in Königsberg und die übrigen in Hamburg, wo ich jetzt die akademische Abschlußprüfung zu bestehen hoffe.

Benjamin Lorenz Lukov

Zu besonderem Dank bin ich Herrn Prof. Dr. *Degkwitz*, außerdem Herrn Dr. *Kartenbach* verpflichtet.